

腺モザイク (卵巣) の推定を可能とし、臨床において重要な手法となると考えられた。

今後は、未同定疾患の whole exome 解析や whole genome 解析による原因遺伝子解明に加え、臨床においては、これら NGS 解析手法による遺伝子診断が必須となると考えられた。

——達成度について——

地域集積された難病・稀少疾患の原因遺伝子単離と迅速診断法の開発を目標として研究を開始し、当初の予定通り、先端異骨症の原因遺伝子を同定し、新規変異を同定、ホルモン抵抗性先端異骨症の *PRKARIA* 遺伝子変異を同定、非典型的先端異骨症の新規原因遺伝子を同定、C (様) 症候群の新たな原因遺伝子を同定し、新規患児における新規遺伝子変異を確認した。

また、次世代シーケンサを用いて、頭蓋骨早期癒合や難聴など症状を基にした、網羅的で低コストの遺伝子群解析システム (遺伝子診断パネル) を開発したこと、プロモーター領域も含めた包括的遺伝子解析が行える例を示せたこと、ターゲット領域の高深度シーケンス解析により性腺モザイクを推定できる低頻度体細胞モザイクを検出できたことは、臨床応用に向けた大きな進展である。

今後は、次世代シーケンス解析を中心とした原因特定解析を継続し、また、臨床での応用を目指し、NGS を活用した稀少疾患の遺伝子解析を継続することで、実践的な網羅的包括的遺伝子診断法を確立できると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

国際

1. Kaname T, Yanagi K, Naritomi K. A commentary on the promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *J Hum Genet*, (2014) in press. (Doi:10.1038/jhg.2014.7).
2. Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y, Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitho S, Sugiura M. Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome. *J Obstetr Gynaecol Res*, (2013) 39:1545-1547.
3. Ganaha A, Kaname T, Yanagi K, Naritomi K, Tono T, Usami S, Suzuki M. Pathogenic substitution of IVS15 + 5G > A in SLC26A4 in patients of Okinawa Islands with enlarged vestibular aqueduct syndrome or Pendred syndrome. *BMC Med Genet* (2013) 14:56.
4. Altıncık A, Kaname T, Demir K, Böber E. A novel mutation in a mother and a son with Aarskog-Scott syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab*, (2013) 26:385-388.
5. Kaname T. Female carrier, Maloy S, Hughes K. Eds. '*Brenner's Encyclopedia of Genetics 2nd edn.*' Elsevier, Oxford, 30-32.
6. Kaname T. Inversion, Maloy S, Hughes K. Eds. '*Brenner's Encyclopedia of Genetics 2nd edn.*' Elsevier, Oxford, 135.
7. Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet*, (2013) 161A:1221-1237.

国内

要 匡, 柳久美子: 常染色体優性遺伝性疾患のエクソーム解析 医学のあゆみ (2013) 245:381-385.

2) 学会発表

国内学会等

(招待講演のみ記載, その他は総括研究報告所に記載)

第53回日本先天異常学会学術集会
2013年7月21日(日)~23日(火),
千里ライフサイエンスセンター;大阪

S1-2: 硬組織先天異常の遺伝学. 要
匡

国際学会

なし

その他

H25年度 熊本大学体験講座「遺伝子と仲良くなろう」2014年2月8日(土)~2月9日(日), 熊本大学; 熊本生命科学の未来を考える. 要 匡

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許得取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）
平成25年度分担研究報告書

研究課題：難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究

分担研究項目：炎症疾患診断および試料収集

－関節リウマチの骨破壊病態に関する基礎研究－

分担研究者： 井田 弘明

（久留米大学医学部 呼吸器・神経・膠原病内科・准教授）

研究協力： 海江田 信二郎（同上・助教）

本多 靖洋（同上・講師）

三嶋 博之（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教）

福田 孝昭（久留米大学医療センター・教授）

研究要旨

難病である関節リウマチの炎症コントロールは、生物学的製剤の開発によって改善されてきた。しかし、機能障害を来す骨破壊の進展を阻止することは、未だに困難である。本研究では、常染色体劣性遺伝形式をとる関節破壊が進行する関節リウマチ患者を選定し、病態解析、遺伝子解析を行ってきた。今年度は次世代シーケンサーで抽出し、さらに変異の有無をシーケンスで確認した6カ所のミスセンス変異もつ候補遺伝子の発現をRT-PCRで確認した。軟骨細胞、骨芽細胞において、5つの候補遺伝子で発現が確認された。

A. 研究目的

難病である関節リウマチ(RA)における骨破壊の機序を解明する基礎研究は重要である。私たちはこれまで、両親が血族結婚で関節破壊が進行する疾患(右図)を選定し、臨床症状の解析、遺伝子解析を行ってきた。昨年度の本研究では、1家系の遺伝子解析を次世代シーケンサーで行った。10遺伝子11カ所のみ抽出され、さらに変異の有無を確かめるため、シーケンスを行い確認したところ、患者で変異のあるホモ、健常兄弟でホモあるいは

ヘテロである6カ所のミスセンス変異を確認した。今年度は、これらの遺伝子が、軟骨細胞や骨芽細胞に発現しているか、確認を行った。



B. 研究方法

ヒト由来軟骨細胞と骨芽細胞を継代

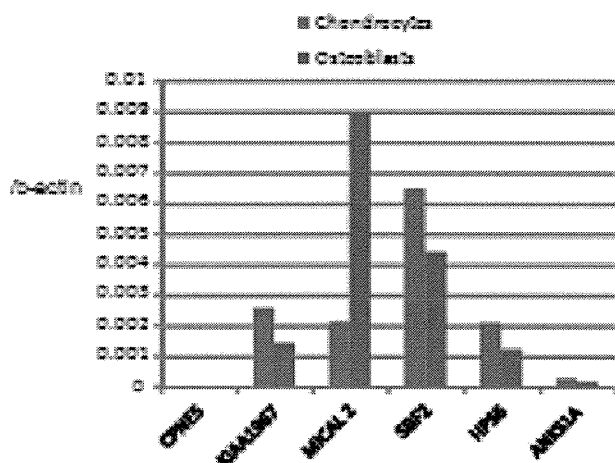
培養後、RNA を抽出した。6つの候補遺伝子(ANKS1A, CPNE5, KIAA1967, HPS6, SBF2, MICAL2)に対してプライマーを作成、各遺伝子ごとに RT-PCR (Stratagene Mx3005P; Agilent Technologies)を行った。

C. 研究結果

以下の6つの候補遺伝子の発現が軟骨細胞、骨芽細胞に存在するか、RT-PCRで確認した。

- 1) ANKS1A:(Odin); Src family kinase target
- 2) CPNE5: ubiquitous Ca(2+)-dependent, phospholipid-binding proteins
- 3) KIAA1967:(DBC1);a putative tumor-suppressor gene
- 4) HPS6:Hermansky-Pudlak syndrome (HPS)
- 5) SBF2:Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 4 (CMT4)
- 6) MICAL2:neuronal growth, actin microfilament regulation

5つの候補遺伝子で発現が確認された。



D. 考察

次世代シーケンサーによって、疾患遺伝子が5遺伝子まで絞ることがで

きた。現在、疾患遺伝子の可能性のある5遺伝子について siRNA を作成、ヒト由来の骨芽細胞、前破骨細胞、軟骨細胞へ導入して、細胞が変化するかスクリーニングを行っている。1家系では疾患遺伝子と確定できないため、同様の家系を全国的に調査したい。疾患遺伝子が絞られた後、骨融解の激しいムチランス型 RA 患者の遺伝子変異を解析したい。

E. 結論

関節破壊が進行する1家系の遺伝子解析で絞られた、6カ所のミスセンス変異をもつ候補遺伝子のうち、5つの候補遺伝子の発現を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会

(招待講演のみ記載, その他は総括研究報告所に記載)

-国内学会-

なし

-国際学会-

なし

論文

Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, Izumi Y, Maeda Y, Uehara R, Nakamura Y, Koga T, Kawakami A, Nakashima M, Fujieda Y, Nonaka F, Eguchi K, Furukawa H, Nakamura T, Nakamura M, Yasunami M. The contribution of SAA1 polymorphisms to Familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population.

PLoS One 2013;8(2):e55227.

右田清志、野中文陽、和泉泰衛、江口勝美、中村正、井田弘明、上松一永：家族性地中海熱の臨床 炎症と免疫 21:40-6, 2013.

川上純、右田清志、井田弘明：自己炎症疾患 *medicina* 50:458-62, 2013.

井田弘明 遺伝性発熱性疾患の遺伝子診断ガイドライン リウマチ科 50:507-511, 2013

井田弘明 自己炎症症候群 最新医学社 68:2561-2569, 2013

3. 知的財産権の出願・取得状況

1. 特許得取得

「自己炎症疾患又は自己免疫疾患関連遺伝子及びその利用」発明者(長崎大学：吉浦孝一郎、久留米大学：井田弘明、和歌山県立医科大学：金澤伸雄)
出願番号：特願 2011-177269

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
平成25年度分担研究報告書

研究課題：地域集積・収集した稀少疾患の系統的原因究明

分担研究項目：臨床症候群診断，試料収集

分担研究者：渡邊順子 (久留米大学医学部・GC/MS 医学応用研究施設・講師)

研究要旨

本研究に関し、分担者としての研究目的は (1) 確実な臨床診断を行い遺伝子特定のための試料を均一化すること (2) 稀な遺伝子疾患と思われる症例を実際に、gene hunting を行う研究班 (吉浦グループ、要グループ) に提供することである。本年度は、自らは 5q31-q33 領域の欠失および反復性の貧血を認める女児症例について、ゲノム解析と臨床症状との関連を解析した。

A. 研究目的

5 番染色体長腕の中間部欠失は、赤血球系細胞の分化障害を特徴とする後天性骨髄異形成症候群 (MDS) の造血細胞において認めることがあり、特に 5q31-q33 領域の単独欠失の合併例では進行が緩やかで比較的予後が良好とされる。また、同領域にはリボソーム蛋白をコードする *RPS14* が存在しており、Diamond Blackfan 貧血 (DBA) との関連も示唆されている。末梢血での同部位の欠失および反復性の貧血を認める女児症例について、欠失部位を正確に同定し、臨床症状との関連を明らかにする。

B. 研究方法

患者からの血液検体から染色体標本を作成すると同時に、DNA を抽出し、Affymetrix 社の CytoScan HD array

を用いて解析する。

C. 結果

【症例要約 OOSA 7873-00】3ヶ月女児、体重増加不良と顔色不良を認め、精査加療目的に入院となる。36週4日、2135gで出生し、Apgar Scoreは7点/8点(5分値)であった。日齢1にビリルビン値の上昇あり、血液型不適合による溶血性貧血の診断のもと、光線療法を4日間行なった。日齢33に貧血の進行を認めたため、濃厚赤血球を輸血しNICUを退院となった。口唇口蓋裂、両側中等度難聴、動脈管開存症、仙骨皮膚洞を合併しており、末梢血での染色体G-band核型は46,XX,del(5)(q33.1q33.3)と、5番染色体長腕中間部欠失を認めた。末梢血では小球性低色素性貧血、網状赤血球減少を認め、骨髄では芽球は認めないもの

の赤血球系は低形成であることが確認された。

□ micro array 解析結果

46,XX,arr[hg19]5q33.2q34(154,224,948-160,297,441)x1,6q24.1(140,461,193-140,884,623)x1,14q23.1q23.3(59,917,596-65,668,713)x1

①5番染色体長腕上 q33.2 から q34 にマップされる約 6.1Mbp のシングルコピーロス、② 6番染色体長腕上 q24.1 にマップされる約 423kb のシングルコピーロス、③14番染色体長腕上 q23.1 から q23.3 にマップされる約 5.8Mbp のシングルコピーロスを認めた。

①の領域に含まれる既知疾患関連遺伝子は *SGCD*, *HAVCR1*, *ITK*, *NIPAL4*, *IL12B*, ③の領域に含まれる既知疾患関連遺伝子は *SIX6*, *SIX1*, *PRKCH*, *SYNE2*, *MTHFD*, *SPTB*, *MAX* がある。②の領域には遺伝子量効果を伴う既知疾患関連遺伝子は含まれていなかった。

D. 考察

本症例では末梢血 G-band において、5番染色体長腕中間部欠失を認めており、欠失部位の詳細な同定を行うために micro array 解析を行った。口唇口蓋裂や先天性心疾患を合併すると同時に骨髄での赤芽球系細胞の低形成を認めたために、先天奇形と先天性赤芽球癆とを合併する Diamond-Blackfan 貧血との関連性が疑われた。欠失部位近傍に存在する *RPS14* は Diamond-Blackfan 貧血の原因遺伝子として知られるリボゾーム蛋白のひとつであるため、同遺伝子の欠失が推測されたが、micro array 解析の結果では、欠失領域は *RPS14* のローカスより遠位部であることが確認された。また、染色体 G-band で欠失が確認されていた 5番染色体以外に、6番染色体、14番染色体にそれぞれ 432bp, 5.8Mbp の欠失を認めたが、いずれの

領域にも赤芽球癆や骨髄細胞の低形成を説明しうる遺伝子は確認できなかった。赤芽球系の低形成を示す症例では後に骨髄異型性症候群や悪性疾患へ移行する症例があることが知られており、今後の臨床症状の経過を観察すると同時に、欠失領域に存在する複数の遺伝子との関連を追跡する必要がある。

E. 結論

赤芽球癆の原因遺伝子として *RPS14* を候補遺伝子として解析を行ったが、同遺伝子は欠失領域外に存在しており、直接の原因遺伝子としては否定的であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T. Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: a previously unrecognized complication. *Pediatrics*. 2013 Jan;131(1):e327-30.
2. Miyake N, Yano S, Sakai C, Hatakeyama H, Matsushima Y, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Nakashima M, Saito H, Ogata K, Goto Y, Matsumoto N. Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mutat*. 2013 Mar;34(3):446-52.
3. Okano Y, Kobayashi K, Ihara K, Ito T,

- Yoshino M, Watanabe Y, Kaji S, Ohura T, Nagao M, Noguchi A, Mushiake S, Hohashi N, Hashimoto-Tamaoki T. Fatigue and quality of life in citrin deficiency during adaptation and compensation stage. *Mol Genet Metab*. 2013 May;109(1):9-13.
4. Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Sep;161(9):2234-43.
5. Higashimoto K, Maeda T, Okada J, Ohtsuka Y, Sasaki K, Hirose A, Nomiya M, Takayanagi T, Fukuzawa R, Yatsuki H, Koide K, Nishioka K, Joh K, Watanabe Y, Yoshiura K, Soejima H. Homozygous deletion of DIS3L2 exon 9 due to non-allelic homologous recombination between LINE-1s in a Japanese patient with Perlman syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2013 Nov;21(11):1316-9.
6. Nakashima S, Watanabe Y, Okada J, Ono H, Nagata E, Fukami M, Ogata T. Critical role of Yp inversion in PRKX/PRKY-mediated Xp;Yp translocation in a patient with 45,X testicular disorder of sex development. *Endocr J*. 2013 Oct 3. [Epub ahead of print]
7. Yatsuki H, Higashimoto K, Jozaki K, Koide K, Okada J, Watanabe Y, Okamoto N, Tsuno Y, Yoshida Y, Ueda K, Shimizu K, Ohashi H, Mukai T, Soejima H. Novel mutations of CDKN1C in Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Genes Genom* (2013) 35:141–147
- 2) 学会発表**
学会
 (招待講演のみ記載, その他は総括研究報告書に記載)
- 国内学会-
 なし
- 国際学会-
 なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)**
1. 特許取得
 なし
2. 実用新案登録
 なし
3. その他
 なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成24年度分担研究報告書

研究課題：地域蓄積・収集した希少疾患の系統的原因究明

分担研究項目：臨床診断，遺伝カウンセリング

分担研究者

園田 徹（九州保健福祉大学保健科学部作業療法学科・教授）

研究要旨

本研究の目的は地域蓄積・収集した希少疾患の系統的原因究明であり，そのための各症例の臨床診断，遺伝カウンセリングを担当した。地域蓄積する疾患とそれらの患者の試料収集を目指した。

A. 研究目的

地域蓄積する疾患とそれらの患者の試料収集を目的とした。

B. 研究方法

宮崎県内の主な新生児施設（宮崎大学医学部付属病院，県立宮崎病院，県立延岡病院，宮崎県医師会病院など）で先天異常の児が出生した場合，連絡が入り，診察に出かけた。宮崎大学医学部付属病院の遺伝カウンセリング部運営委員会委員として，遺伝相談についての助言をしたり，月1回の症例検討会に出席したりした。

C. 研究結果

Down 症候群，Sotos 症候群，kabuki 症候群，Rett 症候群，口顔指症候群 type I，CHARGE 症候群，羊膜破裂シーケンズ，De Lange 症候群，Hallermann-Streiff 症候群，多発奇形／

精神遅滞，Duchenne 型筋ジストロフィー，46,X,dup(q21.2q26)，46,XY,t(2;3)(p13;q26),del(8)(q12.2q21.19)，口唇口蓋裂，滑脳症，脳梁欠損，孔脳症，脊髄髄膜瘤，シトルリン血症 I 型などの症例の臨床診断，遺伝カウンセリングを行ったが，新しい奇形症候群の発見や地域蓄積する疾患の発見はなかった。

D. 考察

なかなか，症例の集積が難しい。

E. 結論

新しい奇形症候群や地域蓄積する疾患の発見に努めたが，その目的を十分果たすことができなかった。

——達成度について——

研究全体に十分に貢献できたとはいえない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Ikewaki N, Sonoda T, Inoko K. Unique properties of cluster of differentiation 93 in the umbilical cord blood of neonates. *Microbiol Immunol* 2013 Dec 57(12): 822-832.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許得取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kaname T, Yanagi K, Naritomi K.	A ommentary on the promise of whole-exome sequencing in medical genetics.	<i>J Hum Genet</i>	In press		2014
Sasaki K, Mishima H, Miura K, <u>Yoshiura KI</u> .	Uniparental disomy analysis in trios using genome-wide SNP array and whole-genome sequencing data imply segmental uniparental isodisomy in general populations.	<i>Gene</i>	512(2)	267-274	2013
Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, Morita S, <u>Yoshiura KI</u> , Takabe K, Endo I.	High expression of ATP-binding cassette transporter ABCC11 in breast tumors is associated with aggressive subtypes and low disease-free survival.	<i>Breast Cancer Res Treat</i>	137(3)	773-782	2013
Ishikawa T, Toyoda Y, <u>Yoshiura K</u> , Niikawa N.	Pharmacogenetics of human ABC transporter ABCC11: new insights into apocrine gland growth and metabolite secretion.	<i>Front Genet</i>	3	306	2013
Higashijima A, Miura K, Mishima H, Kinoshita A, Jo O, Abe S, Hasegawa Y, Miura S, Yamasaki K, Yoshida A, <u>Yoshiura K</u> , Masuzaki H.	Characterization of placenta-specific microRNAs in fetal growth restriction pregnancy.	<i>Prenat Diagn</i>	33(3)	214-222	2013

Higashimoto K, Maeda T, Okada J, Ohtsuka Y, Sasaki K, Hirose A, Nomiya M, Takayanagi T, Fukuzawa R, Yatsuki H, Koide K, Nishioka K, Joh K, Watanabe Y, Yoshiura KI, Soejima H.	Homozygous deletion of DIS3L2 exon 9 due to non-allelic homologous recombination between LINE-1s in a Japanese patient with Perlman syndrome.	<i>Eur J Hum Genet</i>	21(11)	1316-1319	2013
Abe S, Miura K, Kinoshita A, Mishima H, Miura S, Yamasaki K, Hasegawa Y, Higashijima A, Jo O, Sasa K, Yoshida A, Yoshiura K, Masuzaki H.	Copy number variation of the antimicrobial-gene, defensin beta 4, is associated with susceptibility to cervical cancer.	<i>J Hum Genet</i>	58(5)	250-253	2013
Hamaguchi D, Miura K, Abe S, Kinoshita A, Miura S, Yamasaki K, Yoshiura KI, Masuzaki H.	Initial viral load in cases of single human papillomavirus 16 or 52 persistent infection is associated with progression of later cytopathological findings in the uterine cervix.	<i>J Med Virol</i>	85(12)	2093-2100	2013
Nakao K, Oikawa M, Arai J, Mussazhanova Z, Kondo H, Shichijo K, Nakashima M, Hayashi T, Yoshiura K, Hatachi T, Nagayasu T.	A Predictive Factor of the Quality of Microarray Comparative Genomic Hybridization Analysis for Formalin-fixed Paraffin-embedded Archival Tissue.	<i>Diagn Mol Pathol</i>	22(3)	174-180	2013
Hasegawa Y, Miura K, Furuya K, Yoshiura K, Masuzaki H.	Identification of Complete Hydatidiform Mole Pregnancy-Associated MicroRNAs in Plasma.	<i>Clin Chem</i>	59(9)	1410-1412	2013

Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, <u>Watanabe Y</u> , Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N.	MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	161(9)	2234-2243	2013
Kashiyama K, Nakazawa Y, Pilz D, Guo C, Shimada M, Sasaki K, Fawcett H, Wing J, Lewin S, Carr L, Yoshiura K, Utani A, Hirano A, Yamashita S, Greenblatt D, Nardo T, Stefanini M, McGibbon D, Sarkany R, Fassihi H, Takahashi Y, Nagayama Y, Mitsutake N, Lehmann AR, and Ogi T.	Malfunction of Nuclease ERCC1-XPF Results in Diverse Clinical Manifestations and Causes Cockayne Syndrome, Xeroderma Pigmentosum, and Fanconi Anemia.	<i>Am J Hum Genet</i>	92(5)	807-819	2013
Woodbine L, Neal JA, Sasi NK, Shimada M, Deem K, Coleman H, Dobyns WB, <u>Ogi T</u> , Meek K, Davies EG, Jeggo PA.	PRKDC mutations in a SCID patient with profound neurological abnormalities.	<i>The Journal of Clinical Investigation</i>	123(7)	2969-2980	2013
Matsuse M, Mitsutake N, Tanimura S, Ogi T, Nishihara E, Hirokawa M, Fuziwara CS, Saenko VA, Suzuki K, Miyauchi A, Yamashita S.	Functional characterization of the novel BRAF complex mutation, BRAF (V600delinsYM), identified in papillary thyroid carcinoma.	<i>International Journal of Cancer</i>	132(3)	738-743	2013

Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y, Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitho S, Sugiura M.	Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome.	<i>J Obstetr Gynaecol Res,</i>	39(11)	1545-1547	2013
Ganaha A, Kaname T, Yanagi K, Naritomi K, Tono T, Usami S, Suzuki M.	Pathogenic substitution of IVS15 + 5G > A in SLC26A4 in patients of Okinawa Islands with enlarged vestibular aqueduct syndrome or Pendred syndrome.	<i>BMC Med Genet</i>	14	56	2013
Altıncık A, Kaname T, Demir K, Böber E.	A novel mutation in a mother and a son with Aarskog-Scott syndrome.	<i>J Pediatr Endocrinol Metab,</i>	26(3-4)	385-388	2013
Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.	Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature.	<i>Am J Med Genet A,</i>	161A(6)	1221-1237	2013
Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, Izumi Y, Maeda Y, Uehara R, Nakamura Y, Koga T, Kawakami A, Nakashima M, Fujieda Y, Nonaka F, Eguchi K, Furukawa H, Nakamura T, Nakamura M, Yasunami M.	The contribution of SAA1 polymorphisms to Familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population.	<i>PLoS One</i>	8(2)	e55227	2013
Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T.	Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: a previously unrecognized complication.	<i>Pediatrics,</i>	131(1)	e327-330	2013

Miyake N, Yano S, Sakai C, Hatakeyama H, Matsushima Y, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Nakashima M, Saitsu H, Ogata K, Goto Y, Matsumoto N.	Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation.	<i>Hum Mutat</i>	34(3)	446-452	2013
Okano Y, Kobayashi K, Ihara K, Ito T, Yoshino M, Watanabe Y, Kaji S, Ohura T, Nagao M, Noguchi A, Mushiake S, Hohashi N, Hashimoto-Tamaoki T.	Fatigue and quality of life in citrin deficiency during adaptation and compensation stage.	<i>Mol Genet Metab</i>	109(1)	9-13	2013
Nakashima S, Watanabe Y, Okada J, Ono H, Nagata E, Fukami M, Ogata T.	Critical role of Yp inversion in PRKX/PRKY-mediated Xp;Yp translocation in a patient with 45,X testicular disorder of sex development.	<i>Endocr J.</i>	60(12)	1329-1334	2013
Ikewaki N, Sonoda T, Inoko K.	Unique properties of cluster of differentiation 93 in the umbilical cord blood of neonates.	<i>Microbiol Immunol</i>	57(12)	822-832	2013
Ogi T, Nakazawa Y, Sasaki K, Guo C, Yoshiura K, Utani A, Nagayama Y.	Molecular cloning and characterisation of UVSSA, the responsible gene for UV-sensitive syndrome.	Journal of Biochemistry (Tokyo).	85	133-144	2013
吉浦孝一郎	遺伝性疾患におけるエクソーム解析の有用性と近将来	医学のあゆみ	245(5)	363-368	2013
三嶋博之	全エクソーム解析における情報処理.	医学のあゆみ	245(5)	345-351	2013
要 匡	常染色体優性遺伝性疾患のエクソーム解析.	医学のあゆみ	245(5)	381-385	2013
黒滝直弘, 小野慎二, 小澤寛樹, 吉浦孝一郎	発作性運動誘発性舞踏アトローゼの分子メカニズム.	神経内科	79(6)	718-725	2013
右田清志, 野中文陽, 和泉泰衛, 江口勝美, 中村正, 井田弘明, 上松一永	家族性地中海熱の臨床	炎症と免疫	21	40-46	2013

川上純、右田清志、井田弘明	自己炎症疾患	medicina	50	458-462	2013
井田弘明	遺伝性発熱性疾患の遺伝子診断ガイドライン	リウマチ科	50	507-511	2013
井田弘明	自己炎症症候群	最新医学社	68	2561-2569	2013

IV. おもな研究成果の刊行物・別冊

COMMENTARY

A commentary on the promise of whole-exome sequencing in medical genetics

Tadashi Kaname, Kumiko Yanagi and Kenji Naritomi

Journal of Human Genetics advance online publication, 6 February 2014; doi:10.1038/jhg.2014.7

The dawn of next-generation sequencers (NGSs) and innovative sequencing technologies have brought a paradigm shift in medical research and clinical practice. Furthermore, the cost reduction of NGSs enables personalized medicine to come to fruition.

However, whole-genome sequencing (WGS) remains expensive when applied to personal genome analysis. WGS generates a large amount of data that requires high-performance computer processing. Targeted whole-exon capture and sequencing [whole-exome sequencing (WES)] is more cost-effective when compared with WGS because exons represent only ~1–2% of the genome and also higher sequence coverage can be achieved by NGSs. In addition, most Mendelian disorders are caused by exonic mutations or splice-junction mutations, and protein-coding genes harbor ~85% of the mutations that have large effects on disease-related traits.¹ Thus, WES will provide many advantages and lower costs than WGS when analyzing personal genomes.

WES was first successfully used in 2010 to discover the gene responsible for Miller syndrome, a Mendelian disorder.² Since then, WES has been increasingly used as a fast and accurate genomic discovery approach to investigate both rare genetic disorders and common diseases.

WES is widely applied across different areas of medicine, because it has the added advantage of reduced cost and requires analysis of a much smaller but essential dataset when compared with WGS. In addition, recent clinical molecular diagnostics

have used WES to detect heterogeneous Mendelian diseases.^{3,4}

A recent review of WES approaches in medical genetics describes the usefulness of WES in medicine and medical research and the impact of WES on clinical diagnoses.⁵ WES approaches have greatly facilitated the discovery of candidate genes or gene variants in Mendelian disorders and rare variants in common diseases and genomic characterization in cancer. Currently, WES is increasingly being applied to disease gene discovery, cancer typing and molecular diagnosis.⁵

Presently, WES is an essential tool in medical genetics, especially in the research of Mendelian disorders. WES or multigene tests using NGSs are widely applied to heterogeneous disorders including deafness or ciliopathy.^{5,6} WES is also being increasingly applied to genetic testing for undiagnosed patients.^{4,5} Yang *et al.*⁴ performed WES in undiagnosed patients whose phenotypes were suggestive of potential genetic disorders and achieved a molecular diagnosis for 62 of 250 (25%) patients.

Because WES detects individual genetic variation, it can be used to construct a variation database of anthropic and ethnic populations. At the same time, because WES can detect groups of genetic variations that are unrelated to the indication for the first diagnostic purpose but are of medical value for individual patient care, such ‘incidental findings’ pose potential ethical problems that should be strongly considered and discussed in clinical practice.^{5,7}

WES is a widely applied technique in medical genetics that is capable of detecting variations in whole exons. However, in practical use, understanding WES methodology and limitations are important. Current WES

techniques are not capable of detecting all of the variations surrounding exons. Detecting variation by WES is limited by the experimental methods, probe coverage and/or platforms used.^{8–10} Hence, WES may not always detect pathogenic or causative variations in a genetic disease. In addition, because WES is a method to detect genomic sequence variations, when a candidate of causative variation in the disease is detected, it requires verification or support by secondary analyses. In particular, further functional analyses are important to confirm whether the variant is pathogenic or benign.

Nevertheless, WES enables the unprecedented low cost and highly efficient analysis of whole exons. WES can be easily used to comprehensively detect individual variations in exons. It is without doubt that WES is a powerful tool in genome analysis, and it greatly progresses medical genetics.

Although WESs’ limitations need to be overcome, we anticipate that WES will be used not only in medical research but also in clinical practice for example, molecular diagnosis (whole-gene test) and personal genomics before WGS becomes a common place in medical genetics. Thus, a paradigm shift in medicine by advancement in both WES and WGS is expected to continue.

T Kaname, K Yanagi and K Naritomi are at Department of Medical Genetics, University of the Ryukyus Graduate School of Medicine, Okinawa, Japan
E-mail: tkaname@med.u-ryukyu.ac.jp

1 Majewski, J., Schwartztruber, J., Lalonde, E., Montpetit, A. & Jabado, N. What can exome sequencing do for you? *J. Med. Genet.* **48**, 580–589 (2011).
2 Ng, S. B., Buckingham, K. J., Lee, C., Bigham, A. W., Tabor, H. K., Dent, K. M. *et al.* Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat. Genet.* **42**, 30–35 (2010).
3 Kaname, T., Yanagi, K. & Naritomi, K. A commentary on the diagnostic utility of exome sequencing in Joubert syndrome and related disorders. *J. Hum. Genet.* **58**, 57 (2013).
4 Yang, Y., Muzny, D. M., Reid, J. G., Bainbridge, M. N., Willis, A., Ward, P. A. *et al.* Clinical whole-exome

- sequencing for the diagnosis of Mendelian disorders. *N. Engl. J. Med.* **369**, 1502–1511 (2013).
- 5 Rabbani, B., Tekin, M. & Mahdieh, N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *J. Hum. Genet.* **59**, 5–15 (2014).
 - 6 Tsurusaki, Y., Kobayashi, Y., Hisano, M., Ito, S., Doi, H., Nakashima, M. *et al.* The diagnostic utility of exome sequencing in Joubert syndrome and related disorders. *J. Hum. Genet.* **58**, 113–115 (2013).
 - 7 Green, R. C., Berg, J. S., Grody, W. W., Kalia, S. S., Korf, B. R., Martin, C. L. *et al.* ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet. Med.* **15**, 565–574 (2013).
 - 8 Teer, J. K., Bonnycastle, L. L., Chines, P. S., Hansen, N. F., Aoyama, N., Swift, A. J. *et al.* Systematic comparison of three genomic enrichment methods for massively parallel DNA sequencing. *Genome Res.* **20**, 1420–1431 (2010).
 - 9 Clark, M. J., Chen, R., Lam, H. Y., Karczewski, K. J., Chen, R., Euskirchen, G. *et al.* Performance comparison of exome DNA sequencing technologies. *Nat. Genet.* **29**, 908–914 (2011).
 - 10 Wooderchak-Donahue, W. L., O'Fallon, B., Furtado, L. V., Durtschi, J. D., Plant, P., Ridge, P. G. *et al.* A direct comparison of next generation sequencing enrichment methods using an aortopathy gene panel—clinical diagnostics perspective. *BMC Med. Genomics* **5**, 50 (2012).